

印度红树植物 *Xylocarpus moluccensis* 的柠檬苦素曲 栋¹, 张 群¹, 申 丽^{1*}, 汪志刚^{2*}¹暨南大学药学院; ²暨南大学附属第一医院, 广州 510632

摘要:对采集自印度安得拉邦克里希纳港湾红树林湿地的木果楝属红树植物 *X. moluccensis* 种子中的柠檬苦素进行了研究, 利用 95% 乙醇提取、乙酸乙酯萃取、正相硅胶柱层析和高效液相色谱等手段进行分离制备得到 11 个化合物。通过核磁共振波谱和离子阱电喷雾质谱鉴定结构, 全部化合物均为首次从该植物中分离得到, 其中化合物 **1** 为一个新的墨西哥交酯型柠檬苦素, 命名为 krishnolide E。该化合物在浓度 100 μM 下对人羧酸酯酶 2 的抑制率为 63%。

关键词:红树植物; *Xylocarpus moluccensis*; 柠檬苦素; 墨西哥交酯; 人羧酸酯酶 2

中图分类号: R931.77

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)1-0057-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.1.008

Limonoids from Indian mangrove, *Xylocarpus moluccensis*QU Dong¹, ZHANG Qun¹, SHEN Li^{1*}, WANG Zhi-gang^{2*}¹College of Pharmacy, Jinan University; ²The First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: Limonoids from the seeds of *Xylocarpus moluccensis*, collected in the mangrove swamp of Krishna estuary, Andhra Pradesh in India, were investigated. Eleven compounds were isolated and purified by extraction with 95% ethanol, and ethyl acetate, silica gel, ODS gel column chromatography, and high performance liquid chromatography (HPLC). The structures were confirmed by NMR spectra, and ESI-MS. All compounds were isolated for the first time from *X. moluccensis*, and compound **1** was identified as a new mexicanolide limonoid, named krishnolide E. Furthermore, compound **1** exhibited inhibitory effect on human carboxylesterase 2 (CES2) with inhibition rate of 63% at the concentration of 100.0 μM .

Key words: mangrove; *Xylocarpus moluccensis*; limonoid; mexicanolide; human carboxylesterase 2 (CES2)

柠檬苦素是一种高度氧化的四降三萜类化合物, 主要来源于楝科 (Meliaceae) 和芸香科 (Rutaceae) 植物。木果楝属 (*Xylocarpus*) 红树植物是楝科真红树植物, 主要分布于东非、印度、孟加拉国、东南亚、中国南部和澳大利亚北部^[1]。长期遭受海水周期性浸淹使红树植物产生了众多结构新颖的次生代谢产物, 如柠檬苦素、原柠檬苦素、生物碱、芳香酮酸、黄酮、甾醇等^[2,3], 其中柠檬苦素是木果楝属红树植物的主要次生代谢产物。近年来的研究表明该属植物中的柠檬苦素不仅结构多样, 而且具有拒食杀虫、抗肿瘤、神经保护、胃保护和抗抑郁等多种生物活性^[2,3]。墨西哥交酯是一类母核中含有双环 [3.3.1^{2.10}] 壬烷结构单元的柠檬苦素类型, 基本骨

架由 Connolly^[4] 于 1964 年从楝科植物 *Swietenia macrophylla* 中分离得到的柠檬苦素 swietenine 而确定, 是木果楝属红树植物中主要的柠檬苦素类型之一, 本课题组也从木果楝属红树植物发现了多个此类型柠檬苦素^[5]。

羧酸酯酶是一类药物代谢酶, 属于丝氨酸酯酶大家族的一员, 可水解众多内外源的酯类化合物, 其活性与许多的疾病相关。人体中主要存在人羧酸酯酶 1 (CES1) 和人羧酸酯酶 2 (CES2)^[6]。CES2 在人体肠道和很多肿瘤组织中高表达, 在酯类或酰胺类药物或前药的口服生物利用度和治疗效果中起重要作用^[7]。为了从红树植物中寻找结构新颖, 活性显著的次生代谢产物, 本研究选取红树植物 *X. moluccensis* 的种子, 对其化学成分及活性进行了进一步研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

薄层层析用硅胶板 (烟台化学工业研究所 GF2

收稿日期: 2020-04-07 接受日期: 2020-07-16

基金项目: 国家自然科学基金 (31770377); 广东省自然科学基金杰出青年项目 (2020B1515020056)

* 通信作者 Tel: 86-20-85222050; E-mail: shenli6052@sina.com, drwangzgj@sina.com

型层预板); Waters 2998 和 2489 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); AmaZon SL 离子阱电喷雾质谱仪(德国 Bruker Daltonics 公司); Bruker AV-400 型核磁共振波谱仪(德国布鲁克公司); SHZ-C 型循环水式多用真空泵(河南巩义市予华仪器厂); DLSB-5/25 型低温冷却液循环泵(上海霄汉实业发展有限公司型); Hei-VAP Advantage 旋转蒸发仪(德国海道夫公司); KQ-25OVDB 型超声波清洗仪(上海霄汉实业发展有限公司); ME204 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器上海有限公司); Synergy H1 酶标仪(美国 Bio-Tek); 色谱柱(日本 YMC 公司, YMC-Pack, ODS-5-A, 250 mm × 10 mm i. d., 5 μm); 正相柱层析硅胶(青岛海洋化工厂, 100 ~ 200 目); 反相柱层析硅胶(日本 YMC 公司, YMC-GEL, ODS-RP-C₁₈, 75 μm); 氘代试剂(美国剑桥同位素实验室); 乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司); 甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙醇、乙酸乙酯、甲醇(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 丙酮、氯仿(分析纯, 广州化学试剂厂)。

1.2 植物材料

实验材料 *X. moluccensis* 种子于 2007 年 9 月采集于印度安得拉邦克里希纳港湾红树林湿地, 由南方医科大学药学院吴军教授鉴定。样品标本(No. IXM200701)保存于广州市暨南大学药学院海洋药物研究中心。

1.3 提取与分离

干燥的 *X. moluccensis* 种子 6.0 kg, 粉碎后用 95% 的乙醇常温下浸泡提取 6 次(6 × 15 L), 每次浸泡 48 h。6 次提取液减压浓缩得浸膏共 824.6 g, 浸膏加纯水搅拌混悬, 用乙酸乙酯萃取 6 次(6 × 7.5 L), 浓缩蒸干得乙酸乙酯浸膏 299.1 g。

乙酸乙酯萃取物 299.1 g 经正相硅胶(100 ~ 200 目)柱层析, (氯仿/甲醇体积比 100:0 → 5:1, 梯度)洗脱, 共得到 223 个流份。随后经过薄层色谱和高效液相色谱检测分析, 合并正相柱层析流份 58 ~ 67(43.0 g), 经过反相硅胶柱层析(58 × 5.5 cm i. d., 丙酮/水体积比 40:60, 50:50, 65:35, 80:20, 90:10, 100:0, 梯度洗脱), 得到 136 个流份。反相柱层析流份 45 经半制备 HPLC 纯化得到化合物 **1**(4.4 mg, YMC-Pack ODS-A, 乙腈/水, 体积比 49:51, 流速 3 mL/min)、化合物 **3**(23.2 mg, YMC-Pack ODS-A, 甲醇/水, 体积比 67:33, 流速 3 mL/min); 反相柱层析流份 36 经半制备 HPLC (YMC-Pack ODS-A, 甲

醇/水, 体积比 70:30, 流速 3 mL/min) 得到化合物 **8**(4.3 mg); 反相柱层析流份 37 经半制备 HPLC (YMC-Pack ODS-A, 乙腈/水, 体积比 60:40, 流速 3 mL/min) 得到化合物 **6**(2.0 mg); 反相柱层析流份 72 结晶得到化合物 **7**(8.1 mg); 反相柱层析流份 98 经半制备 HPLC 得到化合物 **2**(45.3 mg, YMC-Pack ODS-A, 甲醇/水, 体积比 65:35, 流速 3 mL/min)、化合物 **5**(6.5 mg, YMC-Pack ODS-A, 乙腈/水, 体积比 55:45, 流速 3 mL/min); 反相柱层析流份 106 经半制备 HPLC (YMC-Pack ODS-A, 甲醇/水, 体积比 72:28, 流速 3 mL/min) 得到化合物 **11**(3.5 mg)、化合物 **4**(12.5 mg)。

合并正相柱层析流份 68 ~ 71(22.9 g), 再经过反相硅胶柱层析(60 × 3 cm i. d. 丙酮/水体积比 40:60, 50:50, 65:35, 80:20, 90:10, 100:0 梯度洗脱), 得到 111 个流份。反相柱层析流份 63 ~ 65 合并经半制备 HPLC 得到化合物 **9**(2.8 mg, YMC-Pack ODS-A, 甲醇/水, 体积比 70:30, 流速 3 mL/min); 反相柱层析流份 75 ~ 76 合并结晶得到化合物 **10**(94.9 mg)。

1.4 CES2 抑制活性测试

CES2 活性测试实验过程参照文献中实验方法^[8-10]。首先, 向 200 μL 含有 100 mM 的磷酸钾缓冲液(pH 7.4), 0.2 μg/mL 的人肝微粒体(HLM), 和选择性探针 DDAB(10 μM)的体系中加入 2 μL 化合物 **1**(10 mM), 在 37 °C 恒温下孵育 30 min 后, 加入 100 μL 冰乙腈充分混匀终止反应。之后, 将反应液在 20 000 g 离心 20 min, 取上清液于酶标仪上检测 600 nm 处吸收。以不加入化合物的体系作为空白对照。

2 实验结果

从 *X. moluccensis* 种子中发现了 11 个柠檬苦素化合物(图 1), 其中 1 个新的具有 CES2 抑制活性的化合物 krishnolide E(化合物 **1**)。

2.1 化合物的物理常数、波谱数据及结构解析

化合物 **1** 白色无定形粉末, 易溶于氯仿、丙酮试剂, 微溶于甲醇, 不溶于水。分子式为 C₃₂H₄₂O₁₀。ESI-MS: m/z 609.28 [M + Na]⁺ (calcd for C₃₂H₄₂O₁₀Na, 609.27), 结合核磁共振氢谱(¹H NMR)和碳谱(¹³C NMR)判断分子式为 C₃₂H₄₂O₁₀, 不饱和度为 12。¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据(表 1)表明有 7 个不饱和度分别来源于 1 个酮羰基、3 个酯羰基和 3 个碳碳双键, 因此化合物 **1** 的结构中应该有五个环系。

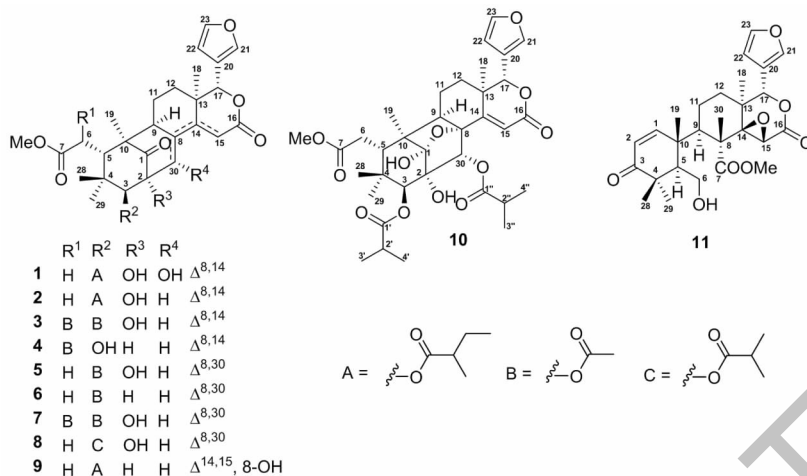


图 1 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-11

结合 DEPT 谱可知化合物 **1** 具有 7 个甲基(其中包括 1 个甲氧基、4 个角甲基和 2 个取代基上的甲

基)、5 个亚甲基、9 个次甲基(包括 3 个烯碳次甲基)和 11 个季碳(其中 4 个为羰基碳)。

表 1 化合物 1 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据(400 MHz 和 100 MHz, CDCl₃)Table 1 ¹H NMR and ¹³C NMR data of compound 1(400 MHz and 100 MHz, CDCl₃)

Position	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	Position	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1		214.2	17	5.64, s	80.4
2		79.7	18	1.13, s	17.4
3	5.18, s	85.2	19	1.24, s	16.8
4		39.4	20		120.4
5	3.29, dd(9.2, 3.8)	41.3	21	7.58, br s	141.9
6	2.38, m	33.2	22	6.50, br s	110.0
7		174.0	23	7.42, br s	142.9
8		127.8	28	0.69, s	22.9
9	2.41, br s	46.1	29	0.79, s	20.0
10		51.6	30	4.73, s	72.7
11 α	1.81, m	18.4	1'		175.9
11 β	1.91, m				
12 α	1.14, m	28.5	2'	2.40, m	41.4
12 β	1.80, m				
13		38.6	3'	1.52, m	26.4
14		137.9	4'	1.00, t(7.2)	11.7
15 α	3.66, dd(21.0, 2.0)	32.7	5'	1.20, d(7.2)	17.7
15 β	3.91, dd(21.0, 2.0)				
16		169.3	7 - OMe	3.71, s	52.2

化合物 **1** 的 ¹H 和 ¹³C NMR 数据与化合物 xy-lomolin A₃ 相似^[5], 只有 C-6 碳数据区别较大, 化合

物 **1** 的 C-6(δ_{C} 33.2, CH₂) 的化学位移相对 xy-lomolin A₃(δ_{C} 73.0 CH) 明显移向高场, 结合 H-5/C-6,

H₂-6/C-7 的 HMBC 远程相关信号确定化合物 **1** 的 C-6 位比 xylomolin A₃ 少羟基取代。

化合物 **1** 的相对立体构型由 NOE 相关信号确认 (图 2)。H-17/H-12 β , H-17/H-5, H-5/H₃-28, H-5/H-30 之间的 NOE 相关信号表明 H-5, H-17, H₃-28, H-30 位 β 构型, 因而与 C-30 相连的 OH 为 β 构型。H-3/2-OH, H₃-29/2-OH, H₃-19/H-9, H₃-18/H-11 α , H₃-18/H-15 α 之间的 NOE 相关信号表明 H-3,

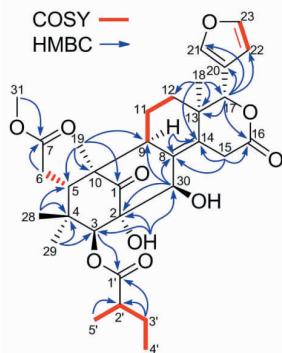
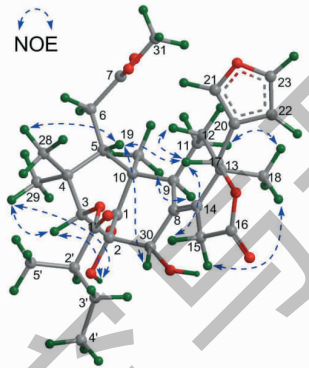


图 2 化合物 **1** 的关键¹H-¹H COSY, HMBC 和 NOE 相关

Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY, HMBC, and NOE correlations for compound **1**

H-9, H₃-18, H₃-19, 2-OH 为 α 构型。H-3 与 H₃-29 之间存在 NOE 相关信号, 但 H-3 与 H-5 之间无 NOE 相关信号, 表明 H-3 为 α 构型, 而与 C-3 相连的 2-甲基丁酰基为 β 构型。因此, 化合物 **1** 被鉴定为 1 个新的墨西哥交酯型柠檬苦素, 命名为 krishnolide E, 其结构如图 1 所示。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。



化合物 2 白色无定形粉末; 易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 593.28 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₂H₄₂O₉。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.06 (1H, s, H-3), 3.14 (1H, dd, J = 9.6, 3.2 Hz, H-5), 2.36 (2H, d, J = 9.6 Hz, H₂-6), 2.04 (1H, s, H-9), 1.79 (2H, m, H₂-11), 1.11 (1H, m, H-12 α), 1.76 (1H, m, H-12 β), 3.47 (1H, d, J = 21.0 Hz, H-15 α), 3.87 (1H, d, J = 21.0 Hz, H-15 β), 5.65 (1H, s, H-17), 1.06 (3H, s, H₃-18), 1.24 (3H, s, H₃-19), 7.40 (1H, br s, H-21), 6.46 (1H, br s, H-22), 7.54 (1H, br s, H-23), 0.77 (3H, s, H₃-28), 0.69 (3H, s, H₃-29), 1.76 (1H, m, H-30 α), 3.23 (1H, d, J = 15.0 Hz, H-30 β), 3.69 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.44 (1H, m, H-2'), 1.51 (1H, m, H-3'a), 1.76 (1H, m, H-3'b), 1.01 (3H, t, J = 7.2 Hz, H₃-4'), 1.19 (3H, d, J = 7.2 Hz, H₃-5'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 217.5 (C-1), 78.2 (C-2), 85.3 (CH-3), 39.1 (C-4), 40.8 (CH-5), 33.3 (CH₂-6), 174.0 (C-7), 125.8 (C-8), 52.0 (CH-9), 52.1 (C-10), 18.7 (CH₂-11), 29.0 (CH₂-12), 38.3 (C-13), 133.0 (C-14), 33.4 (CH₂-15), 169.6 (C-16), 80.5 (CH-17), 17.7 (CH₃-18), 17.7 (CH₃-19), 120.6 (C-20), 142.9 (CH-21), 109.9 (CH-22), 141.7 (CH-23), 20.1 (CH₃-28), 22.6

(CH₃-29), 44.0 (CH₂-30), 52.2 (7-OMe), 176.0 (C-1'), 41.5 (CH-2'), 26.4 (CH₂-3'), 11.7 (CH₃-4'), 16.7 (CH₃-5')。以上数据与文献^[11]报道一致, 故化合物 **2** 被鉴定为 cipadesin N。

化合物 3 白色无定形粉末; 易溶于氯仿、丙酮。分子式为 C₃₁H₃₈O₁₁。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.96 (1H, s, H-3), 3.32 (1H, s, H-5), 5.47 (1H, s, H-6), 2.08 (1H, m, H-9), 1.94 (1H, m, H-11 α), 1.76 (1H, m, H-11 β), 1.81 (1H, m, H-12 α), 1.17 (1H, m, H-12 β), 3.78 (1H, d, J = 19.2 Hz, H-15 α), 3.48 (1H, dt, J = 19.2, 3.0 Hz, H-15 β), 5.60 (1H, s, H-17), 1.06 (3H, s, H₃-18), 1.27 (3H, s, H₃-19), 7.54 (1H, br s, H-21), 6.46 (1H, br s, H-22), 7.44 (1H, br s, H-23), 1.04 (3H, s, H₃-28), 0.84 (3H, s, H₃-29), 3.21 (1H, d, J = 14.4 Hz, H-30 α), 1.76 (1H, m, H-30 β), 3.74 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.18 (3H, s, H₃-2'), 2.19 (3H, s, H₃-2''); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 216.6 (C-1), 78.0 (C-2), 86.6 (CH-3), 39.4 (C-4), 44.3 (CH-5), 72.7 (CH-6), 171.1 (C-7), 125.6 (C-8), 52.8 (CH-9), 52.4 (C-10), 18.6 (CH₂-11), 29.3 (CH₂-12), 38.3 (C-13), 133.6 (C-14), 33.5 (CH₂-15), 169.5 (C-16), 80.7 (CH-17), 16.8 (CH₃-18), 18.0 (CH₃-19), 120.4 (C-20), 141.6

(CH-21), 109.8 (CH-22), 143.1 (CH-23), 22.6 (CH₃-28), 22.6 (CH₃-29), 44.4 (CH₂-30), 53.3 (7-OMe), 169.9 (C-1'), 21.0 (CH₃-2'), 169.7 (C-1''), 21.3 (CH₃-2'')。ESI-MS: m/z 609.28 [M + Na]⁺。以上数据与文献^[12]报道一致,故化合物 **3** 被鉴定为 khayalenoid H。

化合物 4 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 551.31 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₃₆O₉。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.05 (1H, m, H-2), 3.63 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 3.45 (1H, br s, H-5), 5.45 (1H, s, H-6), 2.02 (1H, m, H-9), 1.89 (1H, m, H-11 α), 1.76 (1H, m, H-11 β), 1.84 (1H, m, H-12 α), 1.15 (1H, m, H-12 β), 3.45 (1H, d, $J = 21.0$ Hz, H-15 α), 4.00 (1H, d, $J = 21.2$ Hz, H-15 β), 5.52 (1H, s, H-17), 1.01 (3H, s, H₃-18), 1.15 (3H, s, H₃-19), 7.54 (1H, br s, H-21), 6.47 (1H, br s, H-22), 7.41 (1H, br s, H-23), 0.99 (3H, s, H₃-28), 0.94 (3H, s, H₃-29), 3.17 (1H, dd, $J = 14.4, 2.4$ Hz, H-30 α), 2.00 (1H, m, H-30 β), 3.75 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.17 (3H, s, H₃-2'), 3.69 (1H, s, H-6-OH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 218.9 (C-1), 49.9 (CH-2), 78.4 (CH-3), 39.8 (C-4), 43.0 (CH-5), 73.5 (CH-6), 171.3 (C-7), 128.1 (C-8), 52.6 (CH-9), 54.1 (C-10), 18.6 (CH₂-11), 28.8 (CH₂-12), 37.9 (C-13), 131.8 (C-14), 33.2 (CH₂-15), 171.3 (C-16), 80.3 (CH-17), 17.7 (CH₃-18), 17.0 (CH₃-19), 120.7 (C-20), 141.5 (CH-21), 110.0 (CH-22), 142.8 (CH-23), 23.1 (CH₃-28), 23.5 (CH₃-29), 33.6 (CH₂-30), 53.1 (7-OMe), 169.9 (C-1'), 21.0 (CH₃-2')。以上数据与文献^[13]报道一致,故化合物 **4** 被鉴定为 6-*O*-acetylswietenolide。

化合物 5 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 551.25 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₃₆O₉。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.87 (1H, s, H-3), 3.28 (1H, dd, $J = 8.6, 3.4$ Hz, H-5), 2.36 (2H, m, H₂-6), 2.27 (1H, m, H-9), 1.62 (1H, m, H-11 α), 1.17 (1H, m, H-11 β), 1.42 (1H, m, H-12 α), 1.67 (1H, m, H-12 β), 2.25 (1H, m, H-14), 2.84 (1H, m, H-15 α), 2.90 (1H, m, H-15 β), 5.70 (1H, s, H-17), 1.09 (3H, s, H₃-18), 1.23 (3H, s, H₃-19), 7.80 (1H, br s, H-21), 6.47 (1H, br s, H-22), 7.42 (1H, br s, H-23), 0.81 (3H, s, H₃-28), 0.76 (3H, s, H₃-29), 5.38

(1H, br s, H-30), 3.72 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.13 (3H, s, H₃-2'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 215.0 (C-1), 76.9 (C-2), 84.9 (CH-3), 39.1 (C-4), 41.7 (CH-5), 32.7 (CH₂-6), 173.9 (C-7), 136.5 (C-8), 56.4 (CH-9), 49.5 (C-10), 20.3 (CH₂-11), 34.2 (CH₂-12), 36.7 (C-13), 44.9 (CH-14), 30.0 (CH₂-15), 169.3 (C-16), 77.2 (CH-17), 22.0 (CH₃-18), 15.8 (CH₃-19), 120.6 (C-20), 141.9 (CH-21), 109.7 (CH-22), 143.0 (CH-23), 19.7 (CH₃-28), 21.9 (CH₃-29), 129.1 (CH-30), 52.3 (7-OMe), 170.9 (C-1'), 20.5 (CH₃-2')。以上数据与文献^[14]报道一致,故化合物 **5** 被鉴定为 ruageanin D。

化合物 6 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 535.28 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₉H₃₆O₈。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.50 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 4.76 (1H, br d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 3.36 (1H, dd, $J = 7.6, 4.2$ Hz, H-5), 2.37 (1H, m, H-6a), 2.17 (1H, m, H-6b), 2.38 (1H, m, H-9), 1.17 (1H, m, H-11 α), 1.64 (1H, m, H-11 β), 1.42 (1H, m, H-12 α), 1.67 (1H, m, H-12 β), 2.24 (1H, m, H-14), 2.82 (1H, br d, $J = 18.2$ Hz, H-15 α), 2.92 (1H, dd, $J = 18.2, 6.0$ Hz, H-15 β), 5.71 (1H, s, H-17), 1.08 (3H, s, H₃-18), 1.14 (3H, s, H₃-19), 7.80 (1H, br s, H-21), 6.47 (1H, br s, H-22), 7.42 (1H, br s, H-23), 0.82 (3H, s, H₃-28), 0.79 (3H, s, H₃-29), 5.36 (1H, br d, $J = 7.6$ Hz, H-30), 3.72 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.18 (3H, s, H₃-2'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 217.0 (C-1), 56.4 (CH-2), 77.3 (CH-3), 38.1 (C-4), 48.4 (CH-5), 33.0 (CH₂-6), 174.1 (C-7), 138.4 (C-8), 41.6 (CH-9), 49.9 (C-10), 20.4 (CH₂-11), 30.1 (CH₂-12), 36.7 (C-13), 45.2 (CH-14), 34.4 (CH₂-15), 170.9 (C-16), 77.5 (CH-17), 20.4 (CH₃-18), 15.9 (CH₃-19), 120.7 (C-20), 142.9 (CH-21), 109.8 (CH-22), 141.9 (CH-23), 20.4 (CH₃-28), 22.1 (CH₃-29), 122.9 (CH-30), 52.2 (7-OMe), 169.6 (C-1'), 22.5 (CH₃-2')。以上数据与文献^[15]报道一致,故化合物 **6** 被鉴定为 3 β -acetoxy-1-oxo- Δ^{8-30} -methylmdicate。

化合物 7 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 609.27 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₁H₃₈O₁₁。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.56 (1H, s, H-3), 3.50 (1H, s, H-5), 4.75 (1H, s, H-6), 2.31 (1H,

m, H-9), 1.81 (1H, m, H-11 α), 2.21 (1H, m, H-11 β), 1.46 (1H, m, H-12 α), 1.77 (1H, m, H-12 β), 2.27 (1H, m, H-14), 2.87 (1H, m, H-15 α), 2.88 (1H, m, H-15 β), 5.64 (1H, s, H-17), 1.07 (3H, s, H₃-18), 1.08 (3H, s, H₃-19), 7.71 (1H, br s, H-21), 6.45 (1H, br s, H-22), 7.44 (1H, br s, H-23), 1.27 (3H, s, H₃-28), 0.92 (3H, s, H₃-29), 5.36 (1H, br s, H-30), 3.74 (3H, s, H₃-7-OMe), 2.19 (1H, s, CH₃-2'), 2.12 (1H, s, CH₃-2''); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 214.0 (C-1), 76.9 (C-2), 85.6 (CH-3), 39.4 (C-4), 44.9 (CH-5), 72.5 (CH-6), 171.0 (C-7), 136.4 (C-8), 57.0 (CH-9), 49.6 (C-10), 20.8 (CH₂-11), 34.3 (CH₂-12), 36.6 (C-13), 44.8 (CH-14), 29.9 (CH₂-15), 170.7 (C-16), 77.2 (CH-17), 20.4 (CH₃-18), 15.6 (CH₃-19), 120.7 (C-20), 141.4 (CH-21), 109.5 (CH-22), 143.1 (CH-23), 21.9 (CH₃-28), 22.1 (CH₃-29), 129.4 (CH-30), 53.4 (7-OMe), 169.1 (C-1'), 22.1 (CH₃-2'), 169.7 (C-1''), 21.0 (CH₃-2''). 以上数据与文献^[16]报道一致,故化合物7被鉴定为 humilinolide D。

化合物8 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 579.29 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₁H₄₀O₉。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.89 (1H, s, H-3), 3.33 (1H, dd, J = 8.6, 3.0 Hz, H-5), 2.37 (1H, m, H-6a), 2.17 (1H, m, H-6b), 2.33 (1H, m, H-9), 1.17 (1H, m, H-11 α), 1.62 (1H, m, H-11 β), 1.42 (1H, m, H-12 α), 1.67 (1H, m, H-12 β), 2.25 (1H, m, H-14), 2.89 (1H, m, H-15 α), 2.90 (1H, m, H-15 β), 5.68 (1H, s, H-17), 1.23 (3H, s, H₃-18), 1.11 (3H, s, H₃-19), 7.80 (1H, br s, H-21), 6.47 (1H, br s, H-22), 7.42 (1H, br s, H-23), 0.81 (3H, s, H₃-28), 0.77 (3H, s, H₃-29), 5.38 (1H, br s, H-30), 3.72 (3H, s, 7-OMe), 2.67 (1H, m, H-2'), 1.19 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-3'), 1.19 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-4'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 215.1 (C-1), 76.9 (C-2), 84.6 (CH-3), 39.5 (C-4), 41.5 (CH-5), 32.7 (CH₂-6), 173.8 (C-7), 136.6 (C-8), 56.6 (CH-9), 49.4 (C-10), 20.5 (CH₂-11), 34.3 (CH₂-12), 36.8 (C-13), 45.0 (CH-14), 29.8 (CH₂-15), 169.2 (C-16), 76.9 (CH-17), 21.9 (CH₃-18), 15.7 (CH₃-19), 120.8 (C-20), 142.0 (CH-21), 109.7 (CH-22), 143.0 (CH-23), 19.9 (CH₃-28), 21.9 (CH₃-29), 129.0 (CH-30), 52.3 (7-OMe), 176.7 (C-1'), 34.0

(CH-2'), 19.1 (CH₃-3'), 18.6 (CH₃-4')。以上数据与文献^[17]报道一致,故化合物8被鉴定为 methyl-2-hydroxy-3 β -isobutyroxy-1-oxomeliac-8(30)-enate。

化合物9 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 593.26 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₂H₄₂O₉。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.31 (1H, dd, J = 17.2, 8.0 Hz, H-2), 4.91 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-3), 3.48 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 2.37 (1H, m, H-6a), 2.32 (1H, m, H-6b), 1.83 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-9), 1.66 (1H, m, H-11 α), 1.53 (1H, m, H-11 β), 2.00 (1H, m, H-12 α), 1.28 (1H, m, H-12 β), 6.12 (1H, s, H-15), 5.18 (1H, s, H-17), 1.28 (3H, s, H₃-18), 1.13 (3H, s, H₃-19), 7.51 (1H, br s, H-21), 6.50 (1H, br s, H-22), 7.44 (1H, br s, H-23), 0.77 (3H, s, H₃-28), 0.85 (3H, s, H₃-29), 2.47 (1H, dd, J = 15.6, 6.8 Hz, H-30 α), 3.18 (1H, dd, J = 15.6, 6.8 Hz, H-30 β), 3.71 (3H, s, 7-OMe), 2.39 (1H, m, H-2'), 1.51 (1H, m, H-3'a), 1.72 (1H, m, H-3'b), 0.96 (3H, t, J = 7.0 Hz, H₃-4'), 1.19 (3H, d, J = 7.2 Hz, H₃-5'); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 217.5 (C-1), 44.7 (CH-2), 77.6 (CH-3), 39.8 (C-4), 41.5 (CH-5), 33.1 (CH₂-6), 173.9 (C-7), 72.7 (C-8), 60.8 (CH-9), 48.4 (C-10), 20.7 (CH₂-11), 33.6 (CH₂-12), 38.7 (C-13), 168.3 (C-14), 116.0 (CH-15), 164.8 (C-16), 79.8 (CH-17), 23.1 (CH₃-18), 18.6 (CH₃-19), 119.8 (C-20), 141.8 (CH-21), 110.5 (CH-22), 143.1 (CH-23), 23.2 (CH₃-28), 23.0 (CH₃-29), 35.9 (CH₂-30), 52.1 (7-OMe), 175.5 (C-1'), 41.4 (CH-2'), 26.7 (CH₂-3'), 11.8 (CH₃-4'), 16.9 (CH₃-5')。以上数据与文献^[18]报道一致,故化合物9被鉴定为 xylomexicanin B。

化合物10 白色无定形粉末;易溶于DMSO,微溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: m/z 681.32 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₅H₄₆O₁₂。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 4.78 (1H, s, H-3), 2.51 (1H, m, H-5), 2.29 (2H, m, H₂-6), 2.00 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-9), 1.90 (1H, m, H-11 α), 2.13 (1H, m, H-11 β), 1.21 (1H, m, H-12 α), 1.90 (1H, m, H-12 β), 6.23 (1H, s, H-15), 4.86 (1H, s, H-17), 1.12 (3H, s, H₃-18), 0.99 (3H, s, H₃-19), 7.74 (1H, br s, H-21), 6.53 (1H, br s, H-22), 7.72 (1H, br s, H-23), 0.59 (3H, s, H₃-28), 1.21 (3H, s, H₃-29), 5.53 (1H, s, H-30), 3.59 (3H, s, 7-OMe), 2.55 (1H, m, H-2'), 1.02 (3H, d, J = 7.0

Hz, H₃-3'), 1.02 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H₃-4'), 2.37 (1H, m, H-2''), 1.06 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H₃-3''), 1.06 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H₃-4''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 108.7 (C-1), 79.8 (C-2), 81.2 (CH-3), 38.6 (C-4), 40.4 (CH-5), 31.9 (CH₂-6), 174.2 (C-7), 80.9 (C-8), 50.9 (CH-9), 42.8 (C-10), 14.6 (CH₂-11), 25.2 (CH₂-12), 38.6 (C-13), 159.4 (C-14), 118.6 (CH-15), 163.4 (C-16), 81.1 (CH-17), 19.7 (CH₃-18), 21.0 (CH₃-19), 120.3 (C-20), 141.9 (CH-21), 110.4 (CH-22), 144.1 (CH-23), 24.1 (CH₃-28), 22.1 (CH₃-29), 75.2 (CH-30), 52.1 (7-OMe), 175.7 (C-1'), 33.9 (CH-2'), 18.9 (CH₃-3'), 19.1 (CH₃-4'), 175.7 (C-1''), 33.9 (CH-2''), 19.1 (CH₃-3'''), 19.4 (CH₃-4'')。以上数据与文献^[19]报道一致,故化合物 **10** 被鉴定为 xylogranin A。

化合物 11 白色无定形粉末;易溶于氯仿、丙酮。ESI-MS: *m/z* 487.27 [M + H]⁺, 分子式为 C₂₇H₃₄O₈。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.67 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, H-1), 5.93 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, H-2), 1.95 (1H, br s, H-5), 3.94 (1H, m, H-6a), 4.10 (1H, m, H-6b), 3.32 (1H, d, *J* = 10.8 Hz, H-9), 1.57 (1H, m, H-11α), 1.46 (1H, m, H-11β), 1.50 (1H, m, H-12α), 1.78 (1H, m, H-12β), 3.68 (1H, s, H-15), 5.42 (1H, s, H-17), 1.23 (3H, s, H₃-18), 1.19 (3H, s, H₃-19), 7.38 (1H, br s, H-21), 6.33 (1H, br s, H-22), 7.38 (1H, s, H-23), 1.26 (3H, s, H₃-28), 1.07 (1H, s, H₃-29), 1.26 (1H, s, H₃-30), 3.80 (3H, s, 7-OMe), 2.16 (1H, s, H-6-OH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 152.4 (CH-1), 126.4 (CH-2), 203.4 (C-3), 45.0 (C-4), 51.4 (CH-5), 61.2 (CH₂-6), 176.4 (C-7), 43.2 (C-8), 43.2 (CH-9), 50.9 (C-10), 21.7 (CH₂-11), 32.6 (CH₂-12), 37.9 (C-13), 68.2 (C-14), 51.5 (CH-15), 166.7 (C-16), 78.4 (CH-17), 19.5 (CH₃-18), 18.3 (CH₃-19), 119.9 (C-20), 141.0 (CH-21), 109.9 (CH-22), 143.1 (CH-23), 24.4 (CH₃-28), 23.3 (CH₃-29), 15.3 (CH₃-30), 53.4 (7-OMe)。以上数据与文献^[20]报道一致,故化合物 **11** 被鉴定为 deacetylsecomahoganin。

2.2 化合物 1 的生物活性

对分离得到的新化合物 **1** 进行了人羧酸酯酶 2 的抑制活性测试,结果表明,在 100 μM 浓度下化合物 **1** 对人羧酸酯酶 2 的抑制率为 63%。

3 结论

本文通过对印度红树植物 *X. moluccensis* 种子中的次生代谢产物研究,分离鉴定了 11 个柠檬苦素,全部化合物均为首次从该植物中分离得到。化合物 **1**~**10** 为墨西哥交酯型柠檬苦素,化合物 **1**~**4**, **5**~**8**, **9** 分别含有 Δ^{8,14}、Δ^{8,30}、Δ^{14,15} 双键,化合物 **10** 含有 1,8-半缩醛结构。化合物 **11** 为 Secomahoganin 型柠檬苦素,结构上由 gedunin 的 B 环氧化为 C-7 为羰基的内酯环,内酯环开环衍生而来,是 *X. moluccensis* 中较少见的柠檬苦素类型。其中化合物 **1** 为一个新的墨西哥交酯型柠檬苦素,通过 NMR 和 MS 手段并结合文献,确定了该化合物的结构及相对立体构型。研究结果表明印度 *X. moluccensis* 种子中富含柠檬苦素化合物,为进一步丰富该属植物的柠檬苦素结构多样性,研究地域性对木果楝属植物的次生代谢产物的影响提供了基础数据。对新化合物 **1** 进行了羧酸酯酶 2 的抑制活性测试,结果表明该化合物在浓度 100 μM 下对 CES2 的抑制率为 63%。目前文献中关于柠檬苦素类化合物的羧酸酯酶 2 的抑制活性报道较少,本研究对进一步扩展柠檬苦素的药理活性及作用机制研究,从红树植物中发现具有 CES2 抑制活性的先导化合物提供了实验依据。

参考文献

- 1 Tan QG, Luo XD. Meliaceae limonoids: chemistry and biological activities[J]. Chem Rev, 2011, 111: 7437-7522.
- 2 Cui JG, Lu Y, Huang YM. Review on bioactive substances from mangrove[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1626-1633.
- 3 Guo YW, Li XW, Ye F. Recent progress on the mangrove plants: chemistry and bioactivity[J]. Curr Org Chem, 2016, 20: 1923-1942.
- 4 Connolly J, Henderson R, Mccrindle R, et al. The constitution of swietenine, a novel tetranortriterpenoid [J]. Tetrahedron Lett, 1964, 5: 2593-2597.
- 5 Zhang JZ, Li WS, Dai YG, et al. Twenty-nine new limonoids with skeletal diversity from the mangrove plant, *Xylocarpus moluccensis* [J]. Mar Drugs, 2018, 16: 38.
- 6 Zhang TY, Wang WS, Qian HY, et al. Progress in fluorescence detections of human carboxylesterase [J]. Anal Lab (分析实验室), 2010, 29: 332-335.
- 7 Zou LW, Li YG, Wang P, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationship study of glycyrrhetic acid derivatives as potent and selective inhibitors against human carbox-

- ylesterase 2 [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 112:280-288.
- 8 Jin Q, Feng L, Wang DD, et al. A highly selective near-infrared fluorescent probe for carboxylesterase 2 and its bioimaging applications in living cells and animals [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 83:193-199.
- 9 Qi Q, Wang Y, Mo YJ, et al. Effect of *Panax notoginseng* Saponins on activity of carboxylesterases *in vitro* [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2019, 21:777-781.
- 10 Liu TT, Huo XK, Tian XG, et al. Demethylbellidifolin isolated from *Swertia bimaculate* against human carboxylesterase 2: Kinetics and interaction mechanism merged with docking simulations [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 90:103101.
- 11 Ning J, Di YT, Fang X, et al. Limonoids from the leaves of *Cipadessa baccifera* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73:1327-1331
- 12 Yuan T, Zhang CR, Yang SP, et al. Limonoids and triterpenoids from *Khaya senegalensis* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73:669-74.
- 13 Kadota S, Marpaung L, Kikuchi, T, et al. Constituents of the seeds of *Swietenia mahagoni* Jacq. I: isolation, structures, and ¹H- and ¹³C- nuclear magnetic resonance signal assignments of new tetranortriterpenoids related to swietenine and swietenolide [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38:639-651.
- 14 Mootoo BS, Ramsewak R, Khan A, et al. Tetranortriterpenoids from *Ruagea glabra* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59:544-547.
- 15 Taylor DAH. ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of some limonoids. Part I. The structure of procerin, an extractive from *Carapa procera* [J]. *J Chem Soc, Perkin Trans 1*, 1974, 81:437-441.
- 16 Correa RS, Mata R. New tetranortriterpenoids from *Suzetenza humilis* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56:1567-1574.
- 17 Jimenez A, Villarreal C, Toscano RA, et al. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae) [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49:1981-1988.
- 18 Shen LR, Dong M, Yin BW, et al. Xylomexicanins A and B, new $\Delta^{14,15}$ -mexicanolides from seeds of the Chinese mangrove *Xylocarpus granatum* [J]. *Z Naturforsch C*, 2009, 64:37-42.
- 19 Toume K, Kamiya K, Arai MA, et al. Xylogranin B: a potent Wnt signal inhibitory limonoid from *Xylocarpus granatum* [J]. *Org Lett*, 2013, 15:6106-6109.
- 20 Abdelgaleil S A M, Doe M, Morimoto Y, et al. Rings B, D-seco limonoids from the leaves of *Swietenia mahogany* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67:452-458.

首次酶促合成核酸构建块

碳基(C)-核苷在糖和核酸碱基之间以碳碳键连接,比常见RNA的氮基(N)-核苷之间的碳氮键更加稳定,并给予了活性成分更长的生物半衰期,有望在合成生物学中成为异种生物核酸(xenobiotic nucleic acids, XNA)的构建基块。目前C-核苷都是采用化学合成,缺乏生物合成的方法。

2020年12月8日Nature Communications报道,Graz大学研究人员发现了一种新的酶,命名为“YeiN”,这种酶可以通过一个特定的碳键连接核糖-5-磷酸和尿嘧啶这两个核苷组成部分,这也是世界上第一次利用酶成功产生C-核苷。

在“YeiN”的催化作用下,Graz创办的公司能够生产出几种重要的C-核假尿苷衍生物,其中有一种衍生物被证实可以掺入RNA,起到RNA修饰作用。该研究对于基于RNA的治疗产品生产非常有价值,因为将假尿苷掺入RNA可以增加其稳定性和半衰期,有望提高治疗性RNA(如疫苗)的有效性。

与纯化学合成相比,该生物催化方法更加有效,因为其反应步骤少,不需要有毒化学物质,合成效率也优于传统化学合成,有望拓展C-核苷的应用范围。

吴晓燕编译自 <https://www.sciencedaily.com/releases/2020/12/2021215121157.htm>

原文链接:<https://www.nature.com/articles/s41467-020-20035-0>

原文标题:Reverse C-glycosidase reaction provides C-nucleotide building blocks of xenobiotic nucleic acids